

Respon Sistem Homeostasis Kalsium Tikus Ovariectomi yang Mengkonsumsi Kombinasi *Calcitriol* dengan *Raloxifene*

Calcium Homeostasis System Response of Ovariectomized Rats Consuming *Calcitriol* and *Raloxifene* Combination

Hartiningsih, Devita Anggraeni

Departemen Ilmu Bedah dan Radiologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada
 Jl. Fauna 2, Karangmalang, Jogjakarta 55281.
 Email: hartiningsih56@yahoo.com

Abstract

Normal range of calcium (Ca) level in the blood is maintained by Ca homeostasis in the intestinal, kidney and bone. The objective of this research was to study the response of calcium homeostasis system ovariectomized rats consuming combination of calcitriol and raloxifene by calcium balance study. Twenty five female Wistar rats at 8 weeks of age were divided into five groups of five: normal control (NK), ovariectomy control (OVK), ovariectomy+calcitriol (OVD₂₀), ovariectomy+ raloxifene (OVR), and ovariectomy+calcitriol+ raloxifene supplementation (OVD_R), of five each. Seven weeks after the surgery, each rats was placed into individual metabolic cages for Ca balance studies (Ca consumption, feces and urine Ca excretion, and intestinal Ca absorption). In 5 to 8 days of the balance studies, the remaining food, urine, and feces were collected every day for Ca analyses. The results showed that Ca consumption, feces and urine Ca excretion, and intestinal Ca absorption of OVD_R rats were higher than OVK rats. Consumption and feces Ca excretion of OVD_R rats were higher than OVK rats which informed the decrease of estrogen hormone. Intestinal Ca absorption of OVD_R rats was higher than OVK rats which informed the decrease of parathyroid hormone. Meanwhile, urine Ca excretion of OVD_R rats was higher than OVK rats which informed the decrease of parathyroid hormone and estrogen. In conclusions, the response of calcium homeostasis system in ovariectomized rats consuming combination of calcitriol and raloxifene for 8 weeks was marked by increasing Ca absorption in intestine and Ca excretion in urine.

Key words : Calcitriol, homeostasis Ca, ovariectomized, raloxifene

Abstrak

Kalsium (Ca) darah dalam kisaran normal dipertahankan oleh sistem homeostasis Ca yang bekerja pada intestinal, ginjal, dan tulang. Penelitian ini dilakukan untuk mengkaji respon sistem homeostasis Ca tikus ovariectomi yang mengkonsumsi kombinasi calcitriol dengan raloxifene melalui studi keseimbangan Ca. Dua puluh lima tikus Wistar betina umur delapan minggu, dibagi lima kelompok (kontrol normal NK, kontrol ovariectomi OVK, ovariectomi+ calcitriol OVD₂₀, ovariectomi+ raloxifene OVR, dan ovariectomi+ kombinasi calcitriol dengan raloxifene OVD_R), masing-masing 5 tikus. Tujuh minggu pasca operasi, setiap tikus dimasukkan kandang metabolik individu untuk studi keseimbangan Ca (konsumsi Ca, ekskresi Ca dalam feces dan urin, dan absorpsi Ca intestinal). Pada hari ke 5 sampai 8 studi keseimbangan Ca, sisa pakan, urin, dan feces dikumpulkan untuk analisis Ca setiap hari. Hasil analisis menunjukkan konsumsi Ca, ekskresi Ca dalam feces dan urin, dan absorpsi Ca intestinal tikus OVD_R lebih tinggi dibanding tikus OVK. Konsumsi dan ekskresi Ca feces tikus OVD_R lebih tinggi memberi gambaran turunnya hormon estrogen. Absorpsi Ca intestinal tikus OVD_R lebih tinggi memberi gambaran turunnya hormon paratiroid. Ekskresi Ca dalam urin tikus OVD_R yang lebih tinggi memberi gambaran turunnya hormon paratiroid dan hormon estrogen. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa respon sistem homeostasis Ca tikus ovariectomi yang mengkonsumsi kombinasi calcitriol dengan raloksifen selama 8 minggu ditandai dengan meningkatnya absorpsi Ca intestinal dan ekskresi Ca dalam urin.

Kata kunci : Calcitriol, homeostasis Ca, ovariectomi, raloxifene

Pendahuluan

Kalsium (Ca) darah dipertahankan dalam kisaran normal oleh suatu sistem homeostasis Ca seperti hormon paratiroid, 1,25-dihidroksivitamin D₃, kalsitonin dan estrogen yang bekerja pada intestinal, ginjal, dan tulang (Hoenderop *et al.*, 2005). Turunnya hormon estrogen pada masa menopause dan tikus ovariektomi menurunkan absorpsi Ca intestinal (O'Loughlin dan Morris, 2003), meningkatkan resorpsi tulang (Hartiningih dan Anggraeni, 2013; Hartiningih dan Anggraeni, 2012), mobilisasi Ca dari tulang (Stone *et al.*, 1998) dan menyebabkan lebih tingginya ekskresi Ca dalam urin (Hartiningih dan Anggraeni, 2013). Suplementasi estrogen pada perempuan pascamenopause maupun tikus ovariektomi meningkatkan konsentrasi estrogen dalam darah (Li *et al.*, 2013), meningkatkan absorpsi Ca melalui intestinal secara transpot aktif (van Abel *et al.*, 2003), meningkatkan reabsorpsi Ca melalui tubulus ginjal dan menurunkan ekskresi Ca dalam urin (van Abel *et al.*, 2002), menurunkan aktivitas resorpsi tulang (Manolagas, 2000), dan meningkatkan pembentukan tulang (Qu *et al.*, 1998). Estrogen juga bekerja pada tulang secara tidak langsung melalui penghambatan aktivitas hormon paratiroid (Khosla *et al.*, 1997), dan aktivasi ginjal untuk mengkonversi vitamin D₂ (25-dihidroksivitamin D₃) menjadi vitamin D₃ (1,25-dihidroksivitamin D₃) (Notelovitz, 1997).

Suplemen 1,25-dihidroksivitamin D₃ selain berfungsi untuk mempertahankan kadar Ca darah agar tetap berada dalam kisaran normal, juga berfungsi dalam proses mineralisasi tulang rangka (Jones *et al.*, 1998). Suplemen 1,25-dihidroksivitamin D₃ meningkatkan 1,25-

dihidroksivitamin D₃ plasma (Vieth *et al.*, 2000), meningkatkan absorpsi Ca intestinal dan reabsorpsi Ca oleh ginjal (van de Graaf *et al.*, 2004) dan meningkatkan densitas tulang dengan memicu sintesis dan mineralisasi matriks tulang (Hendy *et al.*, 2006). Suplemen 1,25-dihidroksivitamin D₃ menurunkan sekresi hormon paratiroid (Seamans and Casman, 2009). Suplemen calcitriol atau 1,25-dihidroksivitamin D₃ 8 ng selama 6 minggu menurunkan konsentrasi estradiol tikus Wistar ovariektomi (Hartiningih *et al.*, 2012). Suplemen 1,25-dihidroksivitamin D₃ dan kalsium selama 3 bulan pada tikus 3 bulan pasca ovariektomi juga menurunkan konsentrasi estradiol (Rasheed *et al.*, 2009). Kombinasi suplemen calcitriol dengan *ethynil ethyl estradiol* selama 8 minggu pada tikus ovariektomi meningkatkan konsentrasi estradiol, menurunkan risiko osteoporosis, namun meningkatkan ekskresi Ca urin (Hartiningih dan Anggraeni, 2013).

Raloxifene, suatu *selective estrogen receptor modulator* (SERM) mempunyai efek agonis estrogenik, efektif mencegah osteoporosis perempuan pascamenopause, menekan resorpsi tulang dan meningkatkan pembentukan tulang (Hartiningih dan Anggraeni, 2016), namun meningkatkan ekskresi Ca dalam urin (Rubin *et al.*, 2003). Bagaimana respon sistem homeostasis Ca tikus ovariektomi yang mengkonsumsi kombinasi calcitriol dengan raloxifene belum pernah dilaporkan. Oleh karena itu penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengkaji respon sistem homeostasis Ca tikus ovariektomi yang mengkonsumsi kombinasi calcitriol dengan raloxifene melalui keseimbangan Ca (konsumsi Ca, absorpsi Ca intestinal, dan ekskresi Ca dalam feses dan urin) tikus ovariektomi. Hasil penelitian ini

diharapkan dapat memberi informasi tentang keamanan kombinasi calcitriol dengan raloxifene pada tikus ovariektomi apabila dikonsumsi dalam jangka lama.

Materi dan Metode

Dalam penelitian ini digunakan 25 tikus Wistar betina umur delapan minggu, diberi pakan standar yang mempunyai kandungan protein 20%, Ca 0,6%, P 0,4% dengan komposisi pakan (g/100 g pakan) terdiri dari 78% jagung, 20% ikan teri tawar, 0,3% CaCO_3 , 0,7% molase, dan 1,0% vitamin mineral.

Tikus ditempatkan dalam kandang individu dengan suhu ruang berkisar 22-25°C, diberi pakan standar dan air minum aquabidestilata secara *ad libitum*. Tikus dibagi lima kelompok (kontrol normal NK, kontrol ovariektomi OVK, ovariektomi+ calcitriol 20 ng/hari/tikus secara oral OVD₂₀, ovariektomi+ raloxifene 3 mg/hari/kg tikus secara oral OVR, dan ovariektomi+ kombinasi calcitriol 20 ng/hari/tikus dengan raloxifene 3 mg/hari/kg tikus secara oral OVD_R), masing-masing lima tikus.

Seminggu pasca adaptasi pakan, dilakukan operasi ovariektomi bilateral (pengambilan ovarium kiri dan kanan) melalui sayatan *caudal midline*, sayatan pada kulit dibuat sepanjang 2 cm mulai dari umbilikus ke arah kaudal. Anestetika yang digunakan yaitu: campuran ketamin 10% (dosis 50 mg/kg, Pantex Holland) dan xylazine 2% (dosis 5 mg/kg, Pantex Holland) intramuskuler. Hal yang sama dilakukan pada tikus kontrol meskipun tidak dilakukan pengambilan ovarium (operasi semu). Satu minggu pasca operasi, semua tikus diberi perlakuan selama delapan minggu.

Tujuh minggu pasca operasi, setiap tikus dimasukkan kandang metabolik individu untuk studi

keseimbangan Ca (untuk mengetahui konsumsi Ca, absorpsi Ca, ekskresi Ca feses dan urin). Studi keseimbangan Ca dilakukan pada hari ke 5-8 (setelah adaptasi selama 4 hari). Selama studi keseimbangan Ca, setiap hari sisa pakan dan feses dikumpulkan, ditimbang dan disimpan pada suhu 5°C untuk pemeriksaan Ca. Pada waktu yang sama, urin juga dikumpulkan, diukur, diasamkan (pH 1) dalam larutan HCl 37%, dan disimpan pada suhu 5°C untuk pemeriksaan Ca. Pemeriksaan Ca pakan, feses dan urin dilakukan setelah sampel pakan dan feses diabukan pada suhu 600°C, dan setelah sampel urin diasamkan dan dilarutkan sebagaimana diterangkan oleh Harris (1970). Kalsium dianalisa dengan alat automatic chemistry Beckman Counter synchron Cx9 Pro., metoda Arsenazo III. Nilai absorpsi Ca intestinal adalah selisih dari jumlah mineral Ca yang dikonsumsi dengan jumlah mineral Ca yang diekskresikan dalam feses (Braun *et al.*, 2007).

Data konsumsi Ca, kadar Ca dalam feses, absorpsi Ca intestinal dan kadar Ca dalam urin dianalisis dengan ANOVA pola searah yang dilanjutkan dengan uji Duncan's.

Hasil dan Pembahasan

Ovariektomi pada tikus OVK menyebabkan konsumsi Ca tikus OVK lebih rendah signifikan, menyebabkan absorpsi Ca intestinal dan ekskresi Ca dalam urin tidak berbeda signifikan namun cenderung lebih tinggi dibanding tikus NK (Tabel 1, Gambar 1). Hasil penelitian ini berbeda dengan laporan Liang *et al.* (2002) bahwa dalam waktu 3 minggu pasca ovariektomi, tikus Wistar mengkonsumsi pakan 12% lebih tinggi dibanding tikus normal. Jiang *et al.* (2008) juga melaporkan bahwa tikus Sprague Dawley ovariektomi umur 3

bulan yang diberi pakan secara *ad libitum* selama 14 minggu menunjukkan kenaikan konsumsi pakan yang berbeda sangat signifikan dengan tikus operasi

ovariectomi semu. Absorpsi Ca intestinal tikus OVK yang cenderung lebih tinggi dibanding tikus NK (Tabel 1, Gambar 1) juga berbeda dengan

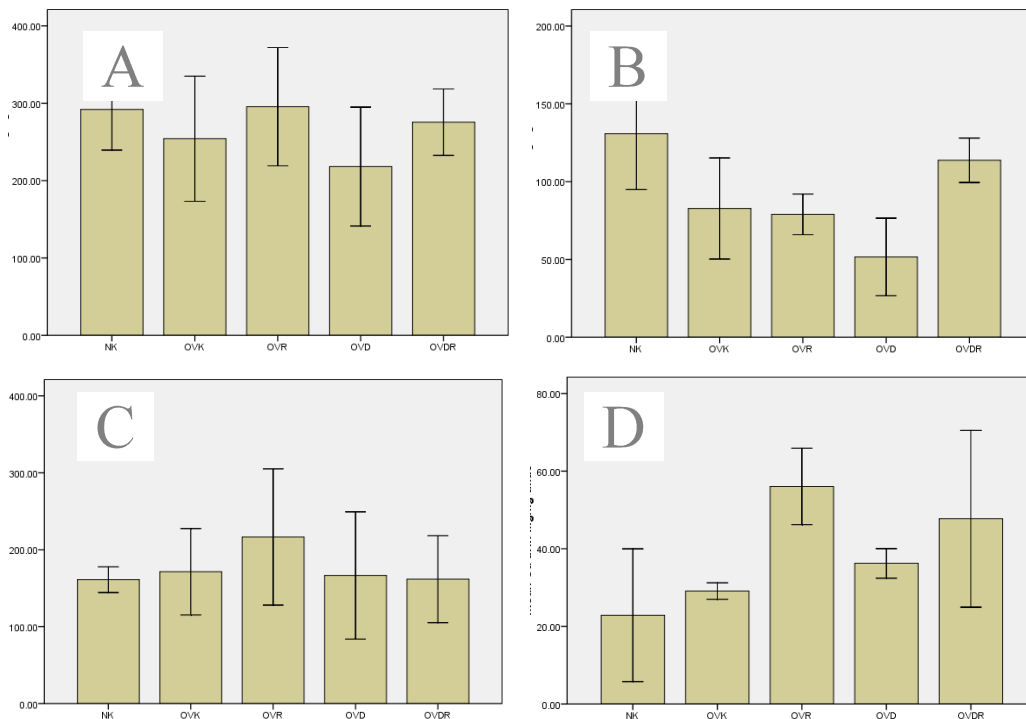
Tabel 1. Rerata konsumsi Ca (mg/kg tikus/hari), absorpsi Ca intestinal (mg/kg), dan Ca urin (mg/kg) tikus Wistar Ovariectomi yang konsumsi kombinasi calcitriol dengan raloxifene selama 8 minggu

Kelompok	Normal NK	Ovariectomi OVK	Ovariectomi + calcitriol OVD	Ovariectomi + Raloxifene OVR	Ovariectomi + calcitriol + raloxifene OVR
Konsumsi Ca	291,95±21,12 ^a	254,15±32,54 ^b	218,15±30,94 ^b	295,53±48,03 ^b	275,45±27,02 ^b
Ca feses	130,81±14,45 ^a	82,74±13,07 ^b	51,56±10,04 ^c	78,97±8,21 ^b	113,71±8,96 ^a
Absorpsi Ca intestinal	146,73±29,35 ^a	177,84±22,48 ^a	156,23±34,18 ^a	216,56±55,63 ^a	189,25±85,61 ^a
Ca urin	22,87±6,89 ^c	29,09±0,85 ^c	36,23±1,53 ^c	55,05±6,19 ^a	47,72±14,31 ^b

Keterangan : Huruf yang berbeda dalam baris yang sama menunjukkan perbedaan signifikan ($P < 0.05$)

laporan beberapa peneliti sebelumnya bahwa ovariectomi pada tikus menurunkan absorpsi Ca intestinal (O'Loughlin dan Morris, 2003), dan terapi dengan hormon estrogen meningkatkan absorpsi Ca intestinal tikus ovariectomi (Hartiningsih dan

Anggraeni, 2013). Lebih tingginya absorpsi Ca intestinal tikus OVK diduga terkait dengan rendahnya konsumsi tikus OVK sehingga memicu absorpsi Ca intestinal secara transeluler atau secara aktif yang tergantung 1,25 dihidroksivitamin D₃.



Gambar 1. A. Rerata konsumsi Ca (mg/kg tikus), B. Rerata ekskresi Ca feses (mg/kg tikus), C. Rerata absorpsi Ca intestinal (mg/kg tikus), dan D. Rerata ekskresi Ca urin (mg/kg tikus), tikus Wistar Ovariectomi yang konsumsi kombinasi calcitriol dengan raloxifene selama 8 minggu

Menurut Brenza *et al.* (1998) dan Takeyama *et al.* (1997) ketika konsentrasi Ca darah sedikit menurun di bawah normal, dalam hitungan detik, hormon paratiroid bekerja tidak langsung melalui induksi aktivitas promotor 1α -hidroksilase pada ginjal untuk meningkatkan produksi dan sekresi 1,25-dihidroksivitamin D₃. Bruder *et al.* (2001) dan Deftos (2001) melaporkan bahwa hormon paratiroid memicu ginjal untuk menghasilkan 1,25-dihidroksivitamin D₃, selanjutnya hormon paratiroid bersama-sama dengan 1,25-dihidroksivitamin D₃ berperan dalam meningkatkan absorpsi Ca intestinal. Dari uraian tersebut di atas, konsumsi Ca tikus OVK yang cenderung lebih rendah dan diikuti absorpsi Ca intestinal cenderung lebih tinggi dibanding tikus NK memberi gambaran bahwa untuk mempertahankan Ca dalam kisaran normal, sistem homeostasis Ca (hormon paratiroid dan 1,25 dihidroksivitamin D₃) diaktivasi untuk meningkatkan absorpsi Ca intestinal. Namun demikian, dalam penelitian ini tidak dilakukan pemeriksaan terhadap status hormon paratiroid dan 1,25 dihidroksivitamin D₃. Selain akibat konsumsi Ca rendah, meningkatnya aktivitas hormon paratiroid juga diduga terkait dengan rendahnya estradiol. Li *et al.* (2013), Pan *et al.* (2010), Hartiningsih dan Anggraeni (2016) melaporkan bahwa ovariectomi pada tikus menurunkan konsentrasi estradiol serum. Dilaporkan Notelovitz (1997) bahwa estrogen berperan sebagai penghambat aktivitas hormon paratiroid, turunnya estrogen berakibat pada meningkatnya aktivitas hormon paratiroid. Ekskresi Ca dalam urin tikus OVK yang lebih tinggi dibanding tikus NK diduga akibat mempunyai estradiol lebih rendah. Menurut van Abel *et al.* (2002) estrogen bekerja langsung pada ginjal untuk meningkatkan reabsorpsi Ca

dalam tubulus ginjal. Ekskresi Ca dalam urin yang tinggi atau hiperkalsiuria juga disebabkan oleh resorpsi Ca tulang (Heilberg dan Weisinger, 2006). Hartiningsih dan Anggraeni (2016) melaporkan bahwa ovariectomi pada tikus meningkatkan resorpsi tulang dan menyebabkan osteoporosis tulang femur. Ekskresi Ca dalam urin tikus OVK yang lebih tinggi juga diduga akibat meningkatnya aktivitas hormon paratiroid untuk memacu resorpsi tulang dan mobilisasi Ca dari tulang. Menurut Hoenderop (2005) dan Guillemant *et al.* (2004) konsumsi Ca rendah memacu sekresi hormon paratiroid, memacu resorpsi tulang, terjadi mobilisasi Ca dari dalam tulang sebagai kompensasi mempertahankan Ca darah dalam kisaran normal. Dalam penelitian ini, meskipun ovariectomi menyebabkan ekskresi Ca dalam urin tikus OVK lebih tinggi dibanding tikus NK namun tidak merubah struktur ginjal sebagaimana dilaporkan (Putri, 2015; Fakhriansyah, 2015; Haraknas, 2015). Dari uraian tersebut di atas memberi gambaran bahwa tikus ovariectomi mempertahankan Ca darah dalam kisaran normal dengan meningkatkan aktivitas hormon paratiroid dan 1,25 dihidroksivitamin D₃ yang ditandai meningkatnya absorpsi Ca intestinal dan ekskresi Ca urin.

Suplementasi raloxifene menyebabkan konsumsi Ca dan absorpsi Ca intestinal tikus OVR tidak berbeda signifikan namun cenderung lebih tinggi dibanding tikus OVK, diikuti ekskresi Ca dalam urin lebih tinggi signifikan dibanding tikus OVK (Tabel 1, Gambar 1). Hartiningsih dan Anggraeni (2016) melaporkan bahwa suplementasi raloxifene pada tikus ovariectomi meningkatkan konsentrasi estradiol. Suplementasi raloxifene selama 6 minggu pada laki-laki juga meningkatkan konsentrasi estradiol (Uebelhart *et al.*, 2004).

Menurut Chen dan Kalu (1998) estrogen berperan langsung dalam absorpsi Ca intestinal transeluler melalui reseptor estrogen pada sel mukosa intestinal. Xu *et al.* (2003) dan van Abel *et al.* (2003) juga melaporkan bahwa estrogen bekerja langsung pada duodenum untuk mempromotori absorpsi Ca intestinal transeluler atau melalui transpot aktif yang ditandai dengan meningkatnya media absorpsi Ca secara transeluler seperti *Transient Receptor Potential-Vanilloid* V5 dan V6 (TRPV5 dan TRPV6), protein pengangkut Ca kalbindin-D_{9k}, dan pompa Ca Plasma membran Ca²⁺-ATPase (PMCA1b). Dilaporkan Zhu *et al.* (2008) bahwa absorpsi Ca intestinal yang lebih tinggi, meningkatkan Ca darah, menurunkan hormon paratiroid dalam sirkulasi darah dan meningkatkan ekskresi Ca dalam urin. Dick *et al.* (2005), melaporkan bahwa untuk mempertahankan konsentrasi Ca darah dalam kisaran normal, hormon paratiroid sebagai sistem homeostasis Ca bekerja pada ginjal untuk meningkatkan reabsorpsi Ca, dan memobilisasi Ca tulang dengan memicu aktivitas resorpsi tulang. Turunnya hormon paratiroid ditandai oleh meningkatnya ekskresi Ca melalui urin. Ekskresi Ca dalam urin tikus OVR yang lebih tinggi dibanding tikus OVK juga diduga akibat turunnya hormon paratiroid terkait lebih tingginya hormon estrogen tikus OVR. Dalam penelitian ini, lebih tingginya konsentrasi estradiol, konsumsi dan absorpsi Ca intestinal tikus OVR diduga menyebabkan turunnya hormon paratiroid dan menjadi penyebab meningkatnya ekskresi Ca dalam urin tikus OVR dua kali lebih tinggi dibanding tikus OVK. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa suplementasi raloxifene pada tikus ovariectomi menurunkan resorpsi tulang dan meningkatkan pembentukan tulang (Hartiningih dan Anggraeni,

2016), namun menyebabkan atrofi dan hipertrofi glomerulus, ditemukannya endapan protein dalam ruang Bowman's dan tubulus proksimalis (Fakhriansyah, 2015). Lebih tingginya ekskresi Ca dalam urin tikus OVR diduga menjadi penyebab hipertrofi glomerulus dan pengendapan protein dalam ruang Bowman's dan tubulus proksimalis sebagaimana dilaporkan oleh Zhao *et al.* (2011). Dari uraian tersebut di atas memberi gambaran bahwa sebagai respon terhadap suplementasi raloxifene, sistem homeostasis Ca mempertahankan Ca darah dalam kisaran normal dengan meningkatkan konsentrasi estradiol dan menurunkan hormon paratiroid yang ditandai tingginya ekskresi Ca dalam urin.

Suplementasi calcitriol menyebabkan konsumsi dan absorpsi Ca intestinal tikus OVD tidak berbeda signifikan namun cenderung lebih rendah dibanding tikus OVK, menyebabkan ekskresi Ca urin tidak berbeda signifikan meskipun cenderung lebih tinggi dibanding tikus OVK (Tabel 1, Gambar 1). Absorpsi Ca intestinal tikus OVD yang lebih rendah diduga akibat lebih rendahnya estradiol tikus OVD. Dilaporkan Hartiningih *et al.* (2012) bahwa suplemen calcitriol 8 ng/tikus selama 6 minggu pada tikus ovariectomi menurunkan konsentrasi estradiol. Hal yang sama terjadi pada tikus ovariectomi yang diberi suplemen calcitriol 20 ng/tikus (Hartiningih dan Anggraeni, 2016). Dalam penelitian ini, ekskresi Ca dalam urin tikus OVD yang lebih tinggi (1,25 lebih tinggi) dibanding tikus OVK selain diduga terkait dengan lebih rendahnya estrogen, juga diduga akibat turunnya hormon paratiroid terkait suplementasi calcitriol. Seamans dan Casman (2009) melaporkan bahwa suplemen 1,25-dihidroksivitamin D₃ menurunkan sekresi hormon paratiroid. Dalam penelitian ini, meskipun

suplementasi calcitriol menyebabkan ekskresi Ca urin cenderung lebih tinggi dibanding tikus OVK, namun dilaporkan Putri (2015) bahwa suplemen calcitriol 20 ng/tikus selama 8 minggu pada tikus ovariectomi tidak menyebabkan perubahan struktur ginjal. Hartiningsih dan Anggraeni (2016) juga melaporkan bahwa suplementasi calcitriol 20 ng pada tikus ovariectomi menunjukkan aktivitas resorpsi tulang lebih rendah dibanding tikus ovariectomi, namun lebih tinggi dibanding tikus normal, dan menyebabkan pembentukan tulang lebih rendah dibanding tikus normal, namun lebih tinggi dibanding tikus ovariectomi. Dari uraian tersebut di atas memberi gambaran bahwa sebagai respon terhadap suplementasi calcitriol, sistem homeostasis Ca mempertahankan Ca darah dalam kisaran normal dengan meningkatkan $1,25$ dihidroksivitamin D_3 dan menurunkan hormon paratiroid yang ditandai tingginya ekskresi Ca dalam urin, namun tidak merubah struktur ginjal sebagaimana dilaporkan Putri (2015).

Kombinasi calcitriol dengan raloxifene pada tikus OVDR menyebabkan konsumsi Ca dan absorpsi Ca intestinal tikus OVDR tidak berbeda signifikan namun cenderung lebih tinggi dibanding tikus OVK, dan menyebabkan ekskresi Ca urin lebih tinggi signifikan dibanding tikus OVK (Tabel 1, Gambar 1). Konsumsi Ca tikus OVDR yang lebih tinggi diduga menyebabkan absorpsi Ca intestinal berlangsung pasif. Menurut Hoenderop (2005) asupan Ca tinggi dapat menyebabkan saturasi absorpsi Ca intestinal secara transpor aktif, dan menyebabkan absorpsi Ca intestinal berlangsung secara pasif. Absorpsi Ca intestinal yang lebih tinggi sehingga meningkatkan Ca darah diduga menurunkan hormon paratiroid dan menjadi

penyebab meningkatnya ekskresi Ca dalam urin tikus OVDR 1,5 kali lebih tinggi dibanding tikus OVK, namun tidak merubah struktur ginjal sebagaimana dilaporkan Haraknas (2015). Ekskresi Ca dalam urin tikus OVDR yang lebih tinggi dibanding tikus OVK juga diduga terkait dengan lebih rendahnya konsentrasi estradiol dibanding tikus OVK. Dilaporkan Hartiningsih dan Anggraeni (2016) bahwa tikus ovariectomi yang diberi suplementasi kombinasi calcitriol dengan raloxifene menurunkan konsentrasi estradiol dan meningkatkan resorpsi tulang, namun diimbangi dengan meningkatnya pembentukan tulang. Dari uraian tersebut di atas memberi gambaran bahwa sebagai respon terhadap kombinasi calcitriol dengan raloxifen, sistem homeostasis Ca mempertahankan Ca darah dalam kisaran normal dengan menurunkan hormon paratiroid yang ditandai tingginya ekskresi Ca urin.

Kesimpulan

Respon homeostasis Ca tikus ovariectomi yang mengkonsumsi kombinasi calcitriol 20 ng/hari dengan raloxifen 3mg/hari selama 8 minggu ditandai dengan meningkatnya absorpsi Ca intestinal dan ekskresi Ca dalam urin.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada yang telah memberi dana penelitian. Penelitian ini merupakan sebagian hasil Penelitian Hibah Pengembangan Bagian Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Daftar Pustaka

- Braun, M., Palacios, C., Wigertz, K., Jackman, L.A., Bryant, R.J., McCabe, L.D., Martin, B.R., McCabe, G.P., Peacock, M. and Weaver, C.M. (2007). Racial differences in skeletal calcium retention in adolescent girls with varied controlled calcium intakes. *Am. J. Clin. Nutr.* 85: 1657-1663.
- Brenza, H.L., Kimmeljeh, C., Jehan, F., Shinki, T., Wakino, S., Anzawa, H., Suda, T. and DeLuca, H.F. (1998). Parathyroid hormone activation of the 25-hydroxyvitamin D3 1-hydroxylase gene promoter. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 95: 1387-1391.
- Bruder, J.M., Guise, T.A. and Mundy, G.R. (2001). Mineral Metabolism. In: *Endocrinology & Metabolism*, Fourth Edition, P. Felig and L.A. Frohman (eds.). Chapter 22, pp.1079-1159.
- Chen, C. and Kalu, D.N. (1998). Modulation of intestinal estrogen receptor by ovariectomy, estrogen and growth hormone. *J. P.E.T.* 286: 328-333.
- Deftos, L.J. (2001). Immunoassays for PTH and PTHrP In: *The Parathyroids*, Second Edition, J.P. Bilezikian, R. Marcus, and A. Levine (eds.), Chapter 9, pp.143-165.
- Dick, M., Dvine, A., Beilby, J. and Prince, R.L. (2005). Effects of endogenous estrogen on renal calcium and phosphate handling in elderly women. *Am. J. Physiol. Metab.* 288: E430-E435.
- Fakhriansyah, A. (2015). Pengaruh Raloxifene terhadap histopatologis ginjal tikus Wistar ovariectomi. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Guillemant, J., Accarie, C., Peres, G., Guillemant, S. (2004). Acute effects of an oral calcium load on markers of bone metabolism during endurance cycling exercise in male athletes. *Calcif. Tissue Int.* 74: 407-414.
- Haraknas. (2015). Pengaruh kombinasi suplemen calcitriol dengan raloxifene terhadap histopatologis ginjal tikus Wistar ovariectomi. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Harris, L.E. (1970). Nutrition research techniques for domestic and wild animals, Vol.1 Animal Science Dept. Utah State Univ., Logan, Utah, pp. 2651.
- Hartiningsih dan Anggraeni, D. (2016). Ekspresi Tartrate-resistant acid phosphatase 5b pada epifisis tulang femur tikus ovariectomi yang mengkonsumsi kombinasi Calcitriol dan Raloxifene. *Jurnal Veteriner*. 17: 1-10.
- Hartiningsih dan Anggraeni, D. (2013). Kombinasi Calcitriol dan Ethinyl Ethyl Estradiol Untuk Mencegah Osteoporosis Tikus Ovariectomi. Laporan Penelitian Pengembangan Bagian 2013 Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Hartiningsih, Anggraeni D., Aji D. (2012). Respon metafisis tulang femur distalis tikus ovariectomi yang mengkonsumsi kalsitriol. *Jurnal Kedokteran Hewan*. 6: 92-98.
- Heilberg, I.P. and Weisinger, J.R. (2006) Bone disease in idiopathic hypercalciuria. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 15: 394-402.
- Hendy, G.N., Hruska, K.A., Mathew, S., Goltzman, D. (2006) New insights into mineral and skeletal regulation by active forms of vitamin D. *Kidney Int.* 69: 218-223.
- Hoenderop, J.G. (2005) Calcium absorption across epithelia. *Physiol Rev.* 85: 373-422.
- Hoenderop, J.G., Dardenne, O., Van Abel, M., van der Kemp, A.W., Van Os, C.H., Arnaud, R., Bindels, R.J. (2002). Modulation of renal Ca²⁺ transport protein genes by dietary Ca²⁺ and 1,25-dihydroxyvitamin D3 in 25-hydroxyvitamin D3-1-hydroxylase knockout mice. *FASEB. J.* 16: 1398-1406.
- Jiang, J.M.Y., Sacco, S.M., Ward, W.E. (2008). Ovariectomy-Induced Hyperphagia Does Not Modulate Bone Mineral Density or Bone Strength in Rats. *J. Nutr.* 38: 2106-2110.
- Jones, G., Strugnell, S.A., DeLuca, H.F. (1998). Current understanding of the molecular actions of vitamin D. *Physiol. Rev.* 78: 1193-1231.

- Khosla, S., Atkinson, E.J., Melton, L.J. III. and Riggs, B.L. (1997). Effects of age and estrogen status on parathyroid hormone levels and biochemical markers of bone turnover in women: A population-based study. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 82: 1552-1527.
- Li, F., Yang, Y., Guo, C., Zhang, C., Yang, Z., Li, P. (2013). Antiosteoporotic activity of echinacoside in ovariectomized rats. *Phytomedicine* 15:20(6): 549-557.
- Liang, Y.Q., Akishita, M., Kim, S., Ako, J., Hashimoto, M., Iijima, K., Ohike, Y., Watanebe, T., Sudoh, N., Toba, K., Yoshizumi, M., Ouchi, Y. (2002). Estrogen receptor ? is involved in the anorectic action of estrogen. *International Journal of Obesity*, 26: 1103-1198.
- Manolagas, S.C. (2000). Birth and death of bone cells: basic regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis. *Endocr. Rev.* 21: 115-137.
- Notelovitz, M. (1997) Estrogen therapy and osteoporosis: principles & practice. *Am. J. Med. Sci.* 313(1): 2-12.
- O'Loughlin, P.D. and Morris, H.A. (2003). Oophorectomy acutely increasing calcium excretion in adult rat. *J. Nutr.* 133: 2277-2280.
- Pan, M., Li Z., Yeung, V., Xu, R.J. (2010). Dietary supplementation of soy germ phytoestrogens or estradiol improves spatial memory performance and increases gene expression of BDNF, TrkB receptor and synaptic factors in ovariectomized rats. *Nutrition and Metabolism.* 7: 75.
- Putri, N., D. (2015). Efek suplementasi Ca vitamin D (calcitriol) pada tikus ovariectomi terhadap gambaran histopatologis ginjal. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Rasheed, W.I., Oraby, F.S., Hussein, J.S. (2009). Therapeutic efficacy of garlic oil with 1,25 Dihydroxy Vit D3 and calcium in osteoporotic ovariectomized rats. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences.* 3(2): 977-981.
- Rubin, M.R., Lee, K.H., McMahon, D.J., Silverberg, S.J. (2003). Raloxifene lowers serum calcium and markers of bone turnover in postmenopausal women with primary hyperparathyroidism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 88(3): 1174-8.
- Seamans, K.M. and Cashman, K.D. (2009). Existing and potentially novel functional marker of vitamin D status : a systematic review. *Am. J. Clin. Nutr.* 89:1997S-2008S.
- Stone, K., Bauer, D.C., Black, D.M., Sklarin, P., Ensrud, K.E. and Cumming, S.R. (1998). Hormonal predictors of bone loss in elderly women : a prospective study. The study of osteoporotic fractures research group. *J. Bone Miner. Res.* 13: 1167-1174.
- Takeyama, K., Kitanaka, S., Sato, T., Kobori, M., Yanagisawa, J. and Kato, S. (1997). 25-Hydroxyvitamin D3 1 -hydroxylase and vitamin D synthesis. *Science.* 277: 1827-1830.
- Uebelhart, B., Hermann, E., Pavo, I., Draper, M.W., Rizzoli, R. (2004). Raloxifene treatment is associated with increased serum estradiol and decreased bone remodeling in healthy middle-aged men with low sex hormone levels. *J. Bone Miner. Res.* 19(9): 1518-1524.
- van Abel, M., Hoenderop, J.G.J., Dardenne, O., St. Arnaud, R., Van Os, C.H., Van Leeuwen, H.J.P.T.M. and Bindels, R.J.M. (2002). 1,25-Dihydroxyvitamin D3-independent stimulatory effect of estrogen on the expression of ECAC1 in the kidney. *J. Am. Nephrol.* 13: 2102-2109.
- van Abel, M., Hoenderop, J.G., van der Kemp, A.W., van Leeuwen, J.P., Bindels, R.J. (2003). Regulation of the epithelial Ca²⁺ channels in small intestine as studied by quantitative mRNA detection. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 285: 978-985.
- van de Graaft, S.F., Boullart, I., Hoenderop, J.G. and Bindels, R.J. (2004). Regulation of the epithelial Ca²⁺ channels TRPV5 and TRPV6 by 1,25 dihydroxy vitamin D3 and dietary Ca²⁺. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 89-90: 303-308.

- Vieth, R., Milojevic, S., Peltekova, V. (2000). Improved cholecalciferol nutrition in rats is noncalcemic, suppresses parathyroid hormone and increases responsiveness to 1,25 dihydroxycholecalciferol. *J. Nutr.* 130: 578-584.
- Watanabe, O., Hara, H., Ayoma, Y., Kasai, T. (2001). Improving effect of feeding with a phosphorylated guar gum hydrlysate on calcium absorption impaired by ovariectomy in rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 65: 613-618.
- Xu, H., Uno, J.K., Inouye, M., Xu, L., Dress, J.B., Collin, J.F. and Ghishan, F.K. (2003). Regulation of intestinal NaPi-IIb cotransporter gene expression by estrogen. *Am. Physiol. Gastrointest.* 285: G1317-G1324.
- Zhao, X., Zhang, Y., Li, L., Imig, J.D., Emmett, N., Gibbons, G. (2011). Glomerular expression of kidney injury molecule-1 and podocytopenia in diabetic glomerulopathy. *Am. J. Nephrol.* 34: 268-280.
- Zhu, K., Devine, A., Dick, I.M., Wilson, S.G. and Prince, R.L. (2008). Effect of calcium and vitamin D supplementation in hip bone mineral density and calcium-relation analyties in elderly ambulatory Australian women: a five year randomized controlled trial. *J. Clin. Endocrin. and Met.* 93(3): 743-749.